

## 遺伝性不整脈疾患の遺伝子解析とその応用

研究分担者 福田 恵一 慶應義塾大学 循環器内科 教授

### 研究要旨

遺伝性不整脈疾患は突然死の原因となるためその病態解明および早期診断、有効な治療法の検索は急務である。実際に当該疾患の患者において原因遺伝子を同定した上で、疾患特異的iPS細胞を作成し、各種研究、解析を行うことで速やかな実臨床へのフィードバックが可能となる。当循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群など当該疾患を有している者に対し、説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的iPS細胞を作製した。1型QT延長症候群の患者での基礎的検討では、 $I_{Kr}$ 遮断薬であるE4031はコントロールおよび患者由来iPS細胞でFPDを延長させ、不整脈が発生した。また $I_{Ks}$ 遮断薬であるchromanol 293Bは患者由来のiPS細胞のFPDは延長させず、本患者における $I_{Ks}$ の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であったがブルガダ症候群の表現型の再現は不可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

### A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の突然死の原因の病態解明および早期診断、有効な治療法の検索を目的とする。当該疾患の患者において原因遺伝子を同定した上で、疾患特異的iPS細胞を作成し、各種研究、解析を行う。またその結果を速やかに実臨床へフィードバックする。

### B. 研究方法

慶應義塾大学病院循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群などの当該疾患を有している者に対し、書面にて説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。また1,2,3,7型QT延長症候群の家系に関しては疾患特異的iPS細胞を作成し、不整脈の病態解明、薬効評価などを行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析にあたり、本研究の目的、方法、同意書などは慶應義塾大学病院の倫理委員会によって承認されたものである。なお遺伝子解析にあたり研究対象全患者には書面を用いて説明を行い同意書を得た。

### C. 研究結果

QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的iPS細胞を作製した。1型QT延長症候群の患者での基礎的検討では、

$I_{Kr}$ 遮断薬であるE4031はコントロールおよび患者由来iPS細胞でFPDを延長させ、不整脈が発生した。また $I_{Ks}$ 遮断薬であるchromanol 293Bは患者由来のiPS細胞のFPDは延長させず、本患者における $I_{Ks}$ の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であった。SCN3Bのノックダウンによりブルガダ症候群の表現型の再現が可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

### D. 考察

この新しい解析手段は従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は有用な手段であることが示された。

### E. 結論

疾患特異的iPS細胞の作成により、不整脈の病態解明、薬効評価などが可能になった。またこの新しい解析手段は従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は遺伝性不整脈疾患の病態解明において有用な手段であることが確立された。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. 藤田 淳, 福田 恵一. 【心不全の最前線】 治す心不全とiPS細胞の展望. Heart View 18巻1号 Page 101-105.
2. 関倫久, 福田 恵一. 循環器疾患における再生医療の展望 循環器領域での再生医療の実践に

- むけて．循環plus 14巻 1号 Page10-12．
3. 福田恵一．再生医学・再生医療の最前線 iPS細胞の循環器領域への臨床応用．日本内科学会雑誌 102巻9号 Page2232-2240．
  4. 黒田裕介, 福田恵一．【iPSの樹立とその応用病態解析】心疾患と疾患特異的iPS細胞．Medical Science Digest 39巻11号 Page 518-521．
  5. Seki T, Yuasa S, Kusumoto D, Kunitomi A, Saito Y, Tohyama S, Yae K, Kishino Y, Okada M, Hashimoto H, Takei M, Egashira T, Kodaira M, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Suzuki T, Murata M, Fujita J, Fukuda K. Generation and characterization of functional cardiomyocytes derived from human T cell-derived induced pluripotent stem cells. PLoS One. 2014;9(1):e85645
  6. Ohno Y, Yuasa S, Egashira T, Seki T, Hashimoto H, Tohyama S, Saito Y, Kunitomi A, Shimoji K, Onizuka T, Kageyama T, Yae K, Tanaka T, Kaneda R, Hattori F, Murata M, Kimura K, Fukuda K. Distinct iPS Cells Show Different Cardiac Differentiation Efficiency. Stem Cells Int. 2013; 2013: 659739.
  7. Chen IP, Fukuda K, Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ. Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia. Cell Reprogram. 2013;15(6):503-13.
  8. Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, Fukuda K. The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom. J Med Dent Sci. 2013;60(1):17-22.
  9. Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(31):12667-72.
  10. Egashira T, Yuasa S, Fukuda K. Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells. Biol Pharm Bull. 2013;36(2):182-8.
2. 学会発表
1. 相澤義泰, 高月誠司, 木村雄弘, 西山信大, 福本耕太郎, 谷本陽子, 谷本耕司郎, 三好俊一郎, 鈴木誠, 横山泰廣, 池主雅臣, 相澤義房, 福田恵一．完全右脚ブロックを呈する発性心室細動症例の臨床的および心電図学的特徴の検討．第27回日本不整脈学会学術集会．2012年7月6日(金)．神奈川県横浜市．
  2. 福田恵一．山田和生招聘講演：iPS細胞およびGWAS研究から見えてくる遺伝性QT延長症候群を巡る諸問題の現状と将来展望．第30回日本心電学会学術集会．2013年10月11日．青森県弘前市．
  3. 福田恵一．ランチョンセミナー：iPS細胞の循環器領域への臨床応用．第30回日本心電学会学術集会．2013年10月11日．青森県弘前市．
  5. Fukuda K. Keynote Lecture: Use on iPS Cells for the Evaluation of Familial Sudden Death Syndrome. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
  6. Fukuda K. Generation of Disease-Specific iPS Cells from Circulating Blood Cell Using Sendai Virus. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
(研究協力者)  
相澤義泰 (慶應義塾大学 循環器内科)